

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**PREHRAMBENO TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

Mirjana Glavaš

**Određivanje elektrokinetičkog potencijala otopine rutina, otopine  
beta-glukana i modela rutina i beta-glukana**

**DIPLOMSKI RAD**

Osijek, rujan 2019.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek  
Zavod za primijenjenu kemiju i ekologiju  
Katedra za primijenjenu kemiju i instrumentalne metode  
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

### Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

**Nastavni predmet:** Fizikalna kemija

**Tema rada** je prihvaćena na VI. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2018./2019. održanoj 28. ožujka 2019.

**Mentor:** dr. sc. Ivana Tomac, znan. sur.

**Komentor:** prof. dr. sc. Lidija Jakobek Barron

### Određivanje elektrokinetičkog potencijala otopine rutina, otopine beta-glukana i modela rutina i beta-glukana

*Mirjana Glavaš, 0113139590*

#### Sažetak:

Elektrokinetički potencijal odnosno zeta-potencijal je fizikalno svojstvo koje je izraženo na bilo kojoj površini makromolekule ili materijala. Poznavanje zeta-potencijala može se koristiti za predviđanje dugoročnog najstabilnijeg ponašanja neke makromolekule. Potencijal na udaljenosti plohe smicanja naziva se elektrokinetički zeta-potencijal. O zeta-potencijalu i naboju na površini makromolekule ovisi njezina stabilnost. Rutin jedan je od biološki najaktivnijih flavonoida koji je široko rasprostranjen u voću i povrću. Posjeduje niz terapijskih svojstava koja se pripisuju snažnom antiradikalnom učinku. Stoga je zadatak ovog diplomskog rada bio odrediti zeta-potencijal otopine rutina, otopine beta-glukana i modela rutina i beta-glukana kroz koncentracijski raspon od 25 do 150 mg L<sup>-1</sup>, a s ciljem određivanja najstabilnijeg ponašanja modela rutina i beta-glukana pri pH vrijednostima od 1,5 do 10 u vremenskom periodu od 1, 2, 5 i 16 sati. Rezultati dobiveni u ovom diplomskom radu pokazali su maksimume apsorpcije pri valnoj duljini od 245 nm i pri rasponu valnih duljina 380-450 nm prisutnim tijekom cijelog vremenskog perioda za model rutina i beta-glukana. Najstabilniji model rutina i molekule  $\beta$ -glukana pokazao se pri pH 10 gdje su vrijednosti zeta-potencijala iznosile  $\pm 30$  mV što prema kriterijima o stabilnosti ukazuje na dobru električnu stabilnost modela.

**Ključne riječi:** zeta potencijal, apsorpcijski spektar, rutin,  $\beta$ -glukan

**Rad sadrži:** 29 stranica  
24 slika  
5 tablica  
29 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** Hrvatski

#### Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

- |   |               |
|---|---------------|
| 1. doc. dr. sc. <i>Valentina Bušić</i>        | predsjednik   |
| 2. dr. sc. <i>Ivana Tomac</i>                 | član-mentor   |
| 3. prof. dr. sc. <i>Lidija Jakobek Barron</i> | član-komentor |
| 4. prof. dr. sc. <i>Ivica Strelec</i>         | zamjena člana |

**Datum obrane:** 27. rujan 2019.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u** Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

graduate thesis

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek  
Faculty of Food Technology Osijek  
Department of Applied Chemistry and Ecology  
Subdepartment of Applied Chemistry and Instrumental Methods  
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

### Graduate program Food engineering

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food technology

**Course title:** Physical chemistry

**Thesis subject** was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. 6 held on March 28, 2019.

**Mentor:** Ivana Tomac, PhD

**Co-mentor:** Lidija Jakobek Barron, PhD, prof.

### Determination of the Electrokinetic Potential of the Rutin Solution, Beta-Glucan Solution and the Rutin and Beta-Glucan Model

Mirjana Glavaš, 0113139590

### Summary:

Electrokinetic potential or zeta potential is a physical property that is expressed on any surface of a macromolecule or material. Knowledge of the zeta potential can be used to predict the long-term stable behaviour of a macromolecule. The potential at the shear plane distance is called the electrokinetic zeta potential. The zeta potential and the charge on the surface of a macromolecule depend on its stability. Rutin is one of the biologically active flavonoids that is widely distributed in fruits and vegetables. It has a number of therapeutic properties that are attributed to its potent antiradical effect. Therefore, the aim of this thesis was to determine the zeta potential of the rutin, beta-glucan solution and rutin and beta-glucan model through a concentration range of 25 to 150 mg L<sup>-1</sup>, with the goal of determining the most stable behaviour of the rutin and beta-glucan model at pH values from 1.5 to 10 over a time period of 1, 2, 5 and 16 hours. The results obtained in this work showed absorption maxima at a wavelength of 245 nm and at a wavelength range of 380-450 nm present throughout the time period for the rutin and beta-glucan model. The most stable model of rutin and  $\beta$ -glucan molecule was shown at pH 10 where zeta potential values were  $\pm 30$  mV, which according to the stability criteria indicates good electrical stability of the model.

**Keywords:** zeta potential, absorption spectra, rutin,  $\beta$ -glucan

**Thesis contains:** 29 pages  
24 figures  
5 tables  
29 references

**Original in:** Croatian

### Defense committee:

- |  |               |
|--|---------------|
| 1. Valentina Bušić, PhD, assistant prof. | chair person  |
| 2. Ivana Tomac, PhD.                     | Supervisor    |
| 3. Lidija Jakobek Barron, PhD, prof.     | co-supervisor |
| 4. Ivica Strelec, PhD, prof.             | stand-in      |

**Defense date:** September 27, 2019

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

*Zahvaljujem se mojoj mentorici dr. sc. Ivani Tomac na stručnim savjetima, prenesenom znanju i pomoći tijekom izrade diplomskog rada. Od srca vam hvala na podršci, motivaciji i razumijevanju.*

*Posebna zahvala ide mojim roditeljima koji su mi bili veliki oslonac i podrška u proteklih pet godina mog studiranja, hvala vam za svaki savjet, ljubav koju ste mi nesebično davali i zahvala što ste mi omogućili sve ovo.*

*Zahvaljujem se mom dečku koji je sa mnom prolazio kroz svaki kolokvij, usmeni i pismeni ispit. Hvala što si mi bio podrška i oslonac u lijepim i manje lijepim trenutcima. Uz tebe je ovo studiranje bilo lakše !*

*Od srca hvala mom bratu, mojoj baki, mojoj rodbini i svim mojim prijateljima koji su bili tu za mene u svakom trenutku.*

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	2
2.1. BETA GLUKAN .....	2
2.2. RUTIN .....	3
2.3. ZETA POTENCIJAL .....	4
2.4. UV-VIS SPEKTROFOTOMETRIJA .....	7
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	9
3.1. ZADATAK RADA .....	9
3.2. MATERIJALI I METODE .....	9
3.2.1. KEMIJE .....	9
3.2.2. PRIPREMA OTOPINA .....	9
3.2.3. UV-VIS SPEKTAR .....	9
3.2.4. ZETA POTENCIJAL .....	10
4. REZULTATI .....	11
4.1. APSORPCIJSKI SPEKTRI MODELA RUTINA I $\beta$ -GLUKANA .....	11
4.2. ZETA POTENCIJAL OTOPINE RUTINA .....	13
4.3. ZETA POTENCIJAL OTOPINE $\beta$ -GLUKANA .....	17
4.4. ZETA POTENCIJAL MODELA RUTINA I $\beta$ -GLUKANA .....	18
5. RASPRAVA .....	23
6. ZAKLJUČAK .....	26
7. LITERATURA .....	27

**Ovaj rada je financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom IP-2016-06-6777.**

## **1. UVOD**

Elektrokinetičke pojave sastoje se u tome da se paralelno s granicom dviju faza koje se jedna prema drugoj relativno gibaju javlja električno polje odnosno da se u električnom polju koji je paralelan s granicom između faza javlja relativno gibanje faza jedne prema drugoj. U elektrokinetičke pojave ubrajaju se potencijal strujanja, elektroforetski odnosno sedimentaciji ili Dornov potencijal, elektroosmoza i elektroforeza. Zeta potencijal ili elektrokinetički potencijal,  $\zeta$ , definira kao potencija na plohi smicanja odnosno jednak je ukupnom padu napona u difuznom dijelu dvosloja. Vrijednosti zeta potencijala daju informacije o stabilnosti sustava odnosno zeta potencijal se može primijeniti na praćenje naboja površine, kao pokazatelj interakcije između otopljenih tvari sadržanih u vodenoj otopini i čvrste površine (Luxbacher i sur., 2016).

UV-Vis spektrofotometrija je metoda koja se koristi za kvalitativnu i kvantitativnu analizu spojeva. Apsorpcijski spektar daje informacije o spoju kao što su prisutne funkcionalne skupine unutar ispitane molekule te se upotrebljava kao pomoć pri identifikaciji spojeva.

$\beta$ -glukan je dugolančani polisaharid izgrađen od više molekula glukoze, koje su međusobno povezane  $\beta$ -1,3-glikozidnim vezama ili  $\beta$ -1,4-glikozidnim vezama (Lazaridou i Biliaderis, 2007). Ubraja se u skupinu prehrambenih vlakana. Izvor  $\beta$ -glukana su žitarice kao što su zob, ječam, zatim gljive, biljke.

Rutin je bioflavonoid, flavonol odnosno kvercetin s hidroksilnom grupom na C-3 atomu supstituiranim sa šećernim jedinicama glukoze i ramnoze. Polifenol je koji se nalazi u biljkama i posjeduje zaštitni učinak na ljudski organizam.

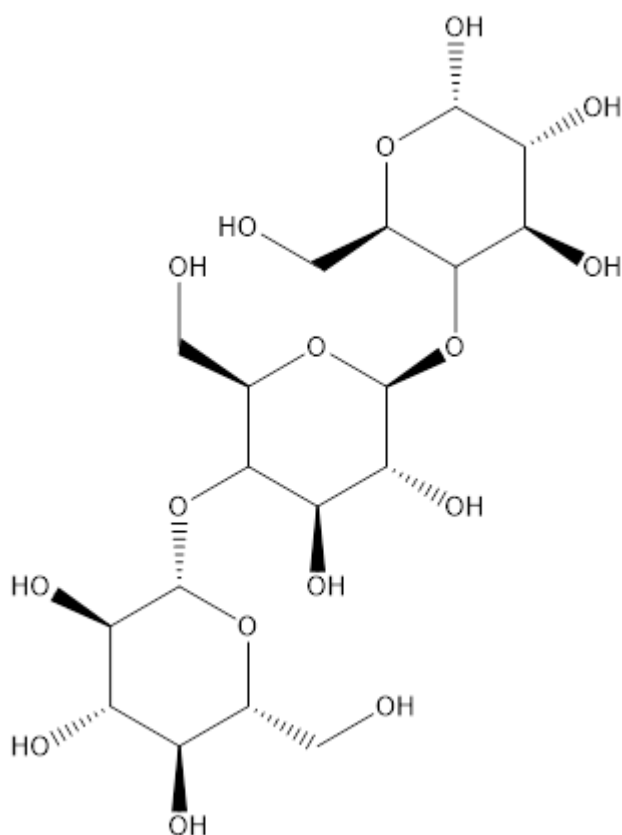
Stoga je zadatak ovog diplomskog rada bio odrediti zeta potencijal otopine rutina, otopine beta-glukana i modela rutina i beta-glukana kroz različiti koncentracijski raspon, a s ciljem određivanja najstabilnijeg ponašanja modela rutina i beta-glukana pri različitim pH vrijednostima.



## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. BETA GLUKAN

$\beta$ -glukan je dugolančani polisaharid izgrađen od više jedinica glukoze, koje su međusobno povezane  $\beta$ -1,3-glikozidnim vezama ili  $\beta$ -1,4-glikozidnim vezama, a prikazan je na **Slici 1** (Lazaridou i Biliaderis, 2007). Kemijski je spoj koji pripada skupini prehrambenih vlakana. Prehrambena vlakna su velika skupina spojeva koja se ne probavljaju niti apsorbiraju u tankom crijevu dok u debelom crijevu može doći do djelomične ili potpune fermentacije.



**Slika 1** Struktura  $\beta$ -glukana

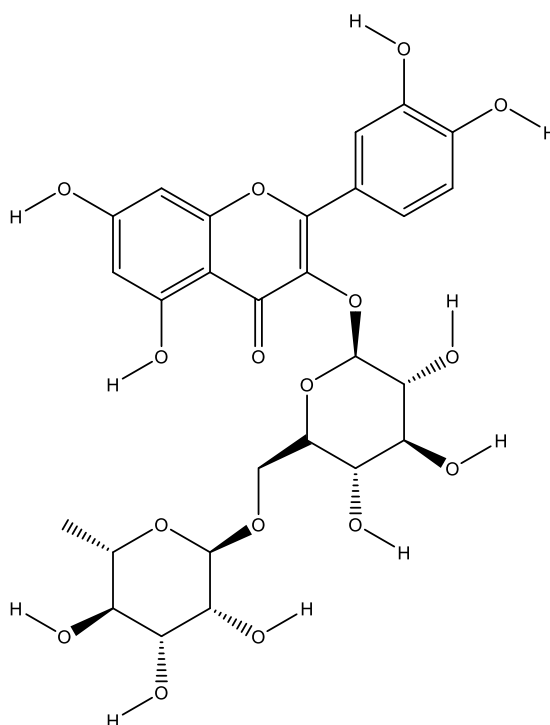
Žitarice kao što su ječam, zob, pšenica, najveći su izvor  $\beta$ -glukana koji se nalazi u vanjskom omotaču zrna i to u njegovom aleuronskom i subaleuronskom sloju. Prema sadržaju  $\beta$ -glukana, ječam sadrži od 5 do 11 %, zob od 3 do 7 % i pšenica 1 % (Bai i sur., 2019). Osim u žitaricama,  $\beta$ -glukan se nalazi u gljivama, kao što su Reiši gljiva, Maitake gljiva, Antrodia gljiva i Šiitake gljiva. Također,  $\beta$ -glukan je prisutan i u pivskom kvascu, šećernoj trsci, raži, kukuruzu, u nekim bakterijama, algama i plijesnima (Krpan, 2010; Mason, 2001).

$\beta$ -glukan ulazi u interakcije s polifenolima za koje je važna je kemijska struktura polifenola, temperatura i pH vrijednost. Hidroksilacija poboljšava adsorpciju flavonola koji sadrži maksimalno tri hidroksilne skupine, ako flavonoli sadrže četiri ili više hidroksilnih skupina tada se adsorpcija flavonola na  $\beta$ -glukan smanjuje (Wang i sur., 2013).

Primjena  $\beta$ -glukana je u području biomedicine, farmacije, prehrambene i kozmetičke industrije. U prehrambenoj industriji koristi se kao zgušnjivač, emulgator te nadomjestak za masti (Krpan, 2010). Također, nalazi se i u gotovim proizvodima od žitarica kao što su žitarice za doručak, pekarski proizvodi, mliječni proizvodi, mesni proizvodi, deserti, umaci, napitci i slično (Havrlentova i sur., 2011). Epidemiološka istraživanja utjecaja  $\beta$ -glukana na zdravlje ljudi pokazala su pozitivan antibakterijski, antitumorski, imunološki, radioprotektivni utjecaj (Bai i sur., 2019; Petravić-Tominac, 2010).

## 2.2. RUTIN

Rutin je jedan od najaktivnijih bioloških flavonoida poznat i kao vitamin P, a smatra se aktivirajućim faktorom za vitamin C. Rutin se može pronaći i po drugim imenima, kao što su rutinozid ili kvercetin-3-rutinozid. Ime rutin potječe od biljke *Ruta graveolens* u kojoj prema sadržaju polifenola, prevladava (Patel, 2019). Na **Slici 2** prikazana je kemijska struktura rutina.



**Slika 2** Struktura rutina

Rutin je flavonoid koji se nalazi u agrumima, heljdi, jabukama, zelenom čaju, mrkvi, grožđu, listu lipe i eukaliptusa te u različitom bobičastom voću (Patel, 2019). Uloga rutina u biljkama je prijenosa kationa i opskrba hranjivim tvarima iz tla. U ljudskom organizmu, rutin djeluje tako da veže ione željeza ( $\text{Fe}^{2+}$ ) te time sprječava vezanje ( $\text{Fe}^{2+}$ ) iona s vodikovim peroksidom koje bi dovelo do nastanka slobodnih radikala odnosno do nastanka oboljenja (Patel, 2019).

Određivanje rutina najčešće se provodi primjenom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC), spektrofotometrijskim metodama (UV/VIS, FTIR, MS, NMR), kapilarnom elektroforezom, primjenom elektrokemijskih tehnika i slično (Ghica i Brett, 2004).

Epidemiološka istraživanja su pokazala da rutin ima pozitivan utjecaj na mikrobnu ravnotežu organizma, protuupalnu, antitumorsku i antibakterijsku zaštitu (Ghica i Brett, 2004; Ganeshpurkar i Saluja, 2016; Jakobek i Matić, 2018).

Mehanizam djelovanja rutina u interakciji s prehrambenim vlaknima nije u cijelosti razjašnjen. Rutin u kombinaciji s prehrambenim vlaknima se može konzumirati kao dio obroka te obje komponente hrane dolaze do debelog crijeva, gdje ih bakterije gastrointestinalnog trakta razgrađuju u bioaktivne spojeve (fenolne kiseline i kratkolančane masne kiseline). Prema Mansoorian i suradnicima (2014) prehrambena vlakna inhibiraju oslobađanje fenolnih kiselina iz rutina što je povezano s mehanizmom fermentacije.

U prehrambenoj industriji rutin se koristi kao konzervans, bojilo, stabilizator, antioksidans, UV upijač. Pri proizvodnji voćnih sokova, gdje zajedno s antocijanima poboljšava stabilnost boje voćnog soka tijekom skladištenja. Osim u prehrambenoj industriji, primjena rutina je i u kemijskoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji. Neupotrebljeni dijelovi jestivih biljaka mogu sadržavati značajnu količinu rutina te se može upotrijebiti za proizvodnju ekstrakata rutina koji se mogu koristiti kao sastojak funkcionalne hrane, lijekova i dodataka prehrani (Frutos i sur., 2019).

### **2.3. ZETA POTENCIJAL**

Elektrokinetičke pojave sastoje se u tome da se paralelno s granicom dviju faza koje se jedna prema drugoj relativno gibaju javlja električno polje odnosno da se u električnom polju koji je paralelan s granicom između faza javlja relativno gibanje faza jedne prema drugoj.

Potencijal strujanja, elektroforetski odnosno sedimentacijski ili Dornov potencijal zatim elektroosmoza i elektroforeza ubrajaju se u elektrokinetičke efekte.

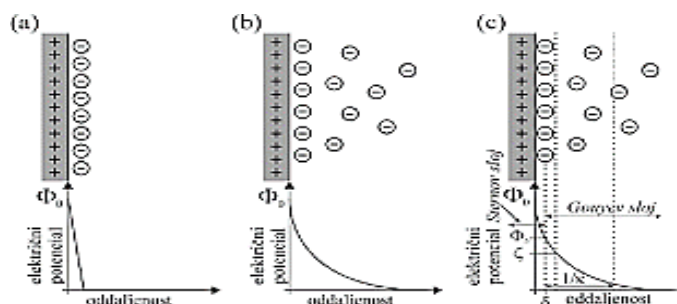
Potencijal strujanja definira se kao razlika potencijala između krajeva uske cijevi kroz koju struji elektrolit. Strujanje tekuće faze preko površine čvrste (krute) faze s formiranjem elektrokemijskog dvosloja rezultira nastankom električnog polja paralelnog smjeru strujanja.

Elektroforetski potencijal naziva se još sedimentacijski potencijal ili Dornov potencijal te se definira kao razlika potencijala koji nastaje uslijed gibanja suspendiranih čvrstih čestica kroz tekuću fazu koja miruje i rezultira nastanku električnog polja paralelnog smjeru kretanja čestica.

Elektroosmoza nastaje ako se duž uske cijevi narine razlika potencijala te se pod djelovanjem električnog polja tekuća faza giba preko čvrste površine.

Elektroforeza predstavlja putovanje čestica pod utjecajem električnog polja uspostavljenog duž mirujućeg tekućeg medija u koji su suspendirane čvrste čestice, rezultira nastajanjem dvosloja i mehaničke sile koja uzrokuje ovo gibanje (Jakobek Barron, 2017; Metikoš-Huković i Martinez, 2000; Piljac, 2006).

Zeta potencijal naziva se još elektrokinetički potencijal i označava se grčkim simbolom  $\zeta$  te se definira kao potencija na plohi smicanja odnosno jednak je ukupnom padu napona u difuznom dijelu dvosloja. Na nastanak elektrokemijskog dvosloja između dvije vodljive faze utječe specifična adsorpcija kationa ili aniona iz otopine na čvrstu površinu, a višak naboja neutraliziran je difuznim slojem iona suprotnog naboja u elektrolitu. Međutim, elektrokemijski dvosloj može nastati i kao posljedica adsorpcije iona nastalih slabom elektrolitičkom disocijacijom ili zbog orijentacije dipola polarnih molekula tekućeg medija uz čvrstu površinu (Slika 3).



**Slika 3** Prikaz električnog dvosloja  
(web 1)

Na **Slici 3** je prikazan električni dvosloj (a) Helmholtz, (b) Gouy-Chapman i (c) Stern. Kod Sternovog modela nastanka elektrokemijskog dvosloja neposredno uz površinu čvrste faze nalazi se Helmholtzov ili Sternov sloj iona koje čvrsto uz površinu drže elektrostatičke privlačne sile i specifične adsorpcijske sile (Van der Waalsovo međudjelovanje i kemijske veze). Debljina tog sloja u kojem je razlika potencijala prema čvrstoj površini naglo linearno raste jednaka je ionskom radijusu adsorbiranih iona. Ovaj sloj se nadovezuje na Gouy-Chapmanov sloj u kojem na ione djeluju elektrostatičke sile i termičko gibanje molekula koje u konačnici oblikuju difuznu atmosferu s nabojem suprotnim naboju elektrodne površine. Pri relativnom gibanju tekućine uz čvrstu površinu Sternov sloj i dio Gouy-Chapmanova sloja ostaju relativno nepomični na površini te se unutar Gouy-Chapmanova sloja javlja ploha smicanja molekula koja struji u odnosu na nepomične molekule, što predstavlja zeta potencijal. Općenito elektrokinetičke pojave uključujući i zeta potencijal ovise o debljini tog dvosloja i prikazan je **Jednadžbom 1**

$$L = \left( \frac{\varepsilon \varepsilon_0 R T}{2 C_0 F^2 z^2} \right)^{1/2} \quad (1)$$

gdje su:

$L$  – debljina dvosloja (m),

$C_0$  – koncentracija iona ( $\text{mol m}^{-3}$ ),

$F$  – Faradayeva konstanta ( $96500 \text{ C mol}^{-1}$ ),

$R$  – opća plinska konstanta ( $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ),

$T$  – termodinamička temperatura (K),

$z$  – oksidacijski stupanj iona,

$\varepsilon$  – dielektrična konstanta materijala između slojeva naboja i

$\varepsilon_0$  – dielektrična konstanta vakuuma ( $8,85 \cdot 10^{-12} \text{ F m}^{-1}$ ).

Iz **Jednadžbe 1** se uočava da je debljina dvosloja obrnuto proporcionalna korijenu koncentracije te će se jasniji utjecaj elektrokinetičkih pojava uočiti kod razrijeđenih otopina.

Budući da se zeta potencijal može definirati kao potencijal na plohi smicanja tada zeta potencijal opisuje **Jednadžba 2**

$$\zeta = \frac{4 \pi \sigma \chi^{-1}}{\varepsilon} \quad (2)$$

gdje je  $\sigma$  naboj po jedinici površine. Razmak  $\chi^{-1}$  opada porastom koncentracije i valencije iona te s opadanjem udaljenosti  $\chi^{-1}$  i specifičnog naboja  $\sigma$  opada i zeta potencijal. Što objašnjava da porastom koncentracije otopine opada zeta potencijal. Ako zeta potencijal iznosi nula tada je došlo do nestanka Gouy-Chapmanova sloja. Ovaj sloj može ponovo nastati ako su u otopini prisutni ioni koji se specifično adsorbiraju na čvrstoj površini i porastom koncentracije elektrolita javlja se zeta potencijal suprotnog predznaka (Jakobek Barron, 2017; Metikoš Huković i Martinez, 2000; Piljac, 2006).

Raspon vrijednosti zeta potencijala za neki prehrambeni sustav je od -200 do 200 mV. Općenito prihvaćen uvjet za raspodjelu stabilnih odnosno nestabilnih sustava je sljedeći:  $\pm 0$ -10 vrlo nestabilan sustav,  $\pm 10$ -20 relativno stabilan,  $\pm 20$ -30 umjereno stabilan i  $\pm 30$  mV vrlo stabilan (Cano-Sarmiento i sur., 2018). Ove vrijednosti zeta potencijala daju informacije o stabilnosti sustava odnosno zeta potencijal se može primijeniti na praćenje naboja površine, kao pokazatelj interakcije između otopljenih tvari sadržanih u vodenoj otopini i čvrste površine (Luxbacher i sur., 2016).

## 2.4. UV-VIS SPEKTROFOTOMETRIJA

UV-Vis spektrofotometrija je metoda koja se koristi za kvalitativnu i kvantitativnu analizu spojeva. UV-VIS spektrofotometrija proučava interakcije elektromagnetskog zračenja i molekula pomoću karakterističnog apsorpcijskog spektra. UV područje obuhvaća 100 do 380 nm, VIS područje obuhvaća 380 do 800 nm. Organske molekule apsorbiraju u ultraljubičastom i vidljivom području što omogućava njihovu kvantitativnu analizu. Odabir valne duljine, važan je pri kvantitativnoj analizi. Mjerenje se uglavnom provodi u apsorpcijskom maksimumu. Bira se valna duljina pri kojoj nema interferencija od drugih tvari koje su prisutne u uzorku, moguće je primijeniti bilo koju valnu duljinu na koju spoj apsorbira ali je najbolje odabrati onu koja ima najstrmiju baždarnu krivulju. Nakon toga, mjeri se nekoliko različitih koncentracija tvari. Koncentracija tvari prikazuje se u ovisnosti o apsorbanciji,  $A$  na odabranoj valnoj duljini pri čemu se dobije kalibracijska krivulja ili pravac. Prilikom kvalitativne analize UV-VIS spektri ne pokazuju dovoljno finu strukturu pa se koriste zajedno sa podacima dobivenih od masenih spektara, IR spektara ili NMR (Jakobek, 2017).

Spektrofotometar je instrument pomoću kojeg se provodi UV-Vis spektrofotometrija, a čine ga izvor zračenja odnosno volframova (vidljivi dio spektra) ili deuterijeva žarulja (ultraljubičasti dio spektra). Elektromagnetsko zračenje prolazi kroz sektor valnih duljina, svjetlost prolazi kroz kivetu s uzorkom te dolazi do interakcije čestica uzorka i zračenja. Zračenje potom prolazi do detektora. Detektor zračenje prevodi u signal te ga procesor signala zapisuje kao spektar.

Spektrofotometrijska tehnika je precizna, točna, jednostavna i selektivna. Organske komponente i prijelazni metali su čestice koje se ovom metodom najčešće analiziraju jer se apsorbiraju u vidljivom ili ultraljubičastom djelu zračenja, ali osim njih čestice koje se ne apsorbiraju u ovom području se mogu prevesti u derivate koji su pogodni za analizu pomoću ove tehnike. Selektivnost metode dobiva se odabirom valnih duljina upadne svjetlosti koje će apsorbirati samo željena komponenta iz uzorka čime se omogućava proučavanje u smjesi bez da se komponenta izolira iz nje. UV-VIS spektroskopija svakodnevno se koristi u kemiji, biokemiji i farmaciji, a primjenjuje se u kontroli kvalitete, razvoju lijekova i analitici te u kinetici i kromatografiji, gdje se mjerenje UV-VIS spektra u vremenu može upotrijebiti za praćenje odvijanja procesa u nekom vremenskom periodu.

UV- VIS spektar (apsorpcijski spektar) daje određene informacije o spoju kao što su vrste funkcionalnih skupina u molekuli. Koristi se kao pomoć u identifikaciji, ali se za potpunu identifikaciju treba upotrijebiti neka druga tehnika (IR,MS). Na UV-VIS spektre veliki utjecaj imaju otapala te se koriste ona otapala koja ne apsorbiraju u UV-VIS području, kao što su heksan, etanol, voda,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  i slično (Jakobek, 2017).



### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### **3.1. ZADATAK RADA**

- odrediti zeta-potencijal: a) otopine rutina,

b) otopine beta-glukana,

c) modela rutina i beta glukana

kroz različiti koncentracijski raspon i

- odrediti najstabilnije ponašanje modela rutina i beta-glukana pri različitim pH vrijednostima.

### **3.2. MATERIJALI I METODE**

#### **3.2.1. KEMIJE**

Rutin,  $\beta$ -glukan, fosfatne soli, karbonatne soli, HCl, KCl, destilirana voda

#### **3.2.2. PRIPREMA OTOPINA**

Pripremila se otopina rutina koncentracije 6660 mg/L u 100% metanolu. Radne koncentracije rutina bile su u rasponu od 25 do 150 mg L<sup>-1</sup>, a pripremale su se razrjeđenjem u odgovarajućoj otopini pufera. Upotrijebljeni puferi bili su fosfatni pufer pH vrijednosti 5,5 i 7,5, zatim karbonatni-bikarbonatni pufer pH vrijednosti 10 i HCl-KCl pH vrijednosti 1,5. Svi puferi bili su koncentracije 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

Otopina  $\beta$ -glukana, koncentracije 190 mgL<sup>-1</sup>, pripremljena je u ultračistoj vodi. Upotrijebljena koncentracija otopine  $\beta$ -glukana za provođenje ispitivanja u ovom radu bila je 5 mgL<sup>-1</sup>.

#### **3.2.3. UV-Vis SPEKTAR**

UV-1280 spektrofotometar tvrtke Shimadzu, koristio se za snimanje UV-Vis spektara pripremljenih otopina rutina i beta-glukana u rasponu valnih duljina od 270 nm do 800 nm (Slika 4).



**Slika 4** Spektrofotometar UV-1280

### 3.2.4. ZETA POTENCIJAL

Određivanje zeta potencijala provedeno je na uređaju Zetasizer 2000 (Malvern Instrument) na sobnoj temperaturi od 25 °C u kapilarnoj protočnoj ćeliji (**Slika 5**). Broj ponavljanja mjerenja uzoraka bio je 3 puta. Vrijednosti zeta potencijala dobivene su pomoću Helmholtz-Smoluchowski relacije prikazane **Jednadžbom 3**:

$$\zeta = \frac{\kappa \eta \Delta E}{\varepsilon_0 \varepsilon \Delta P} \quad (3)$$

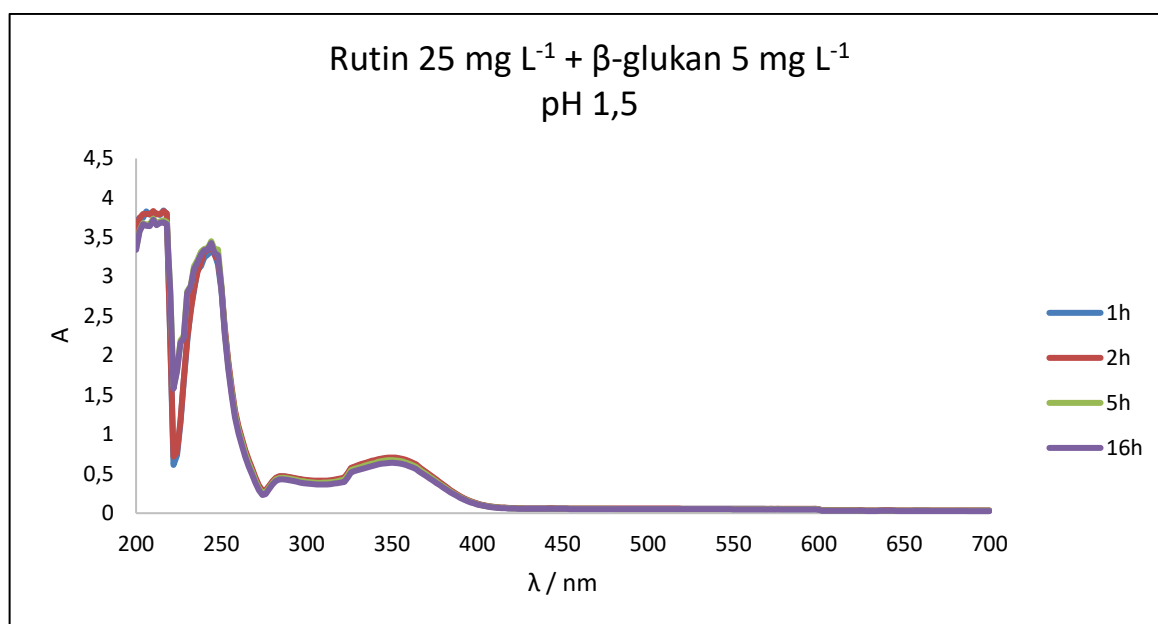
gdje su  $\Delta E$  potencijal strujanja;  $\Delta P$  razlika u hidrodinamičkom tlaku;  $\eta$  viskoznost otopine;  $\varepsilon, \varepsilon_0, \kappa$  dielektrična konstanta otopine, propusnost vakuumu i vodljivost otopine (Susanto i sur., 2009).



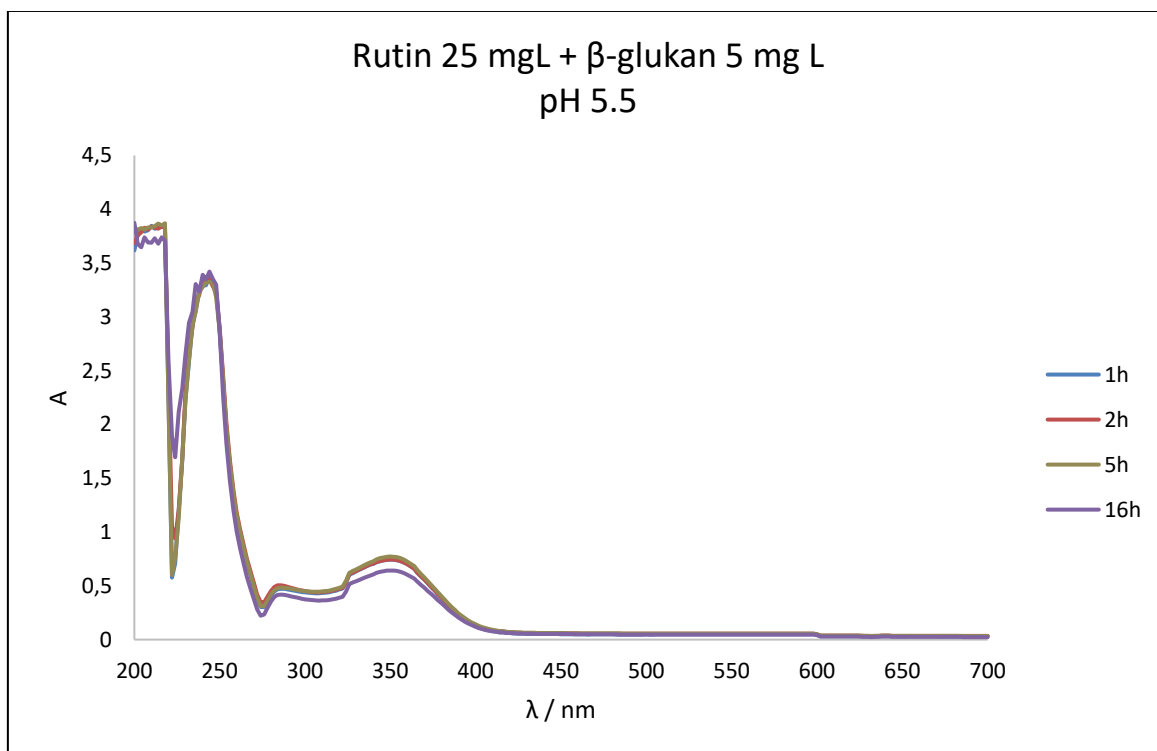
**Slika 5** Uređaj za određivanje zeta potencijala

## **4. REZULTATI**

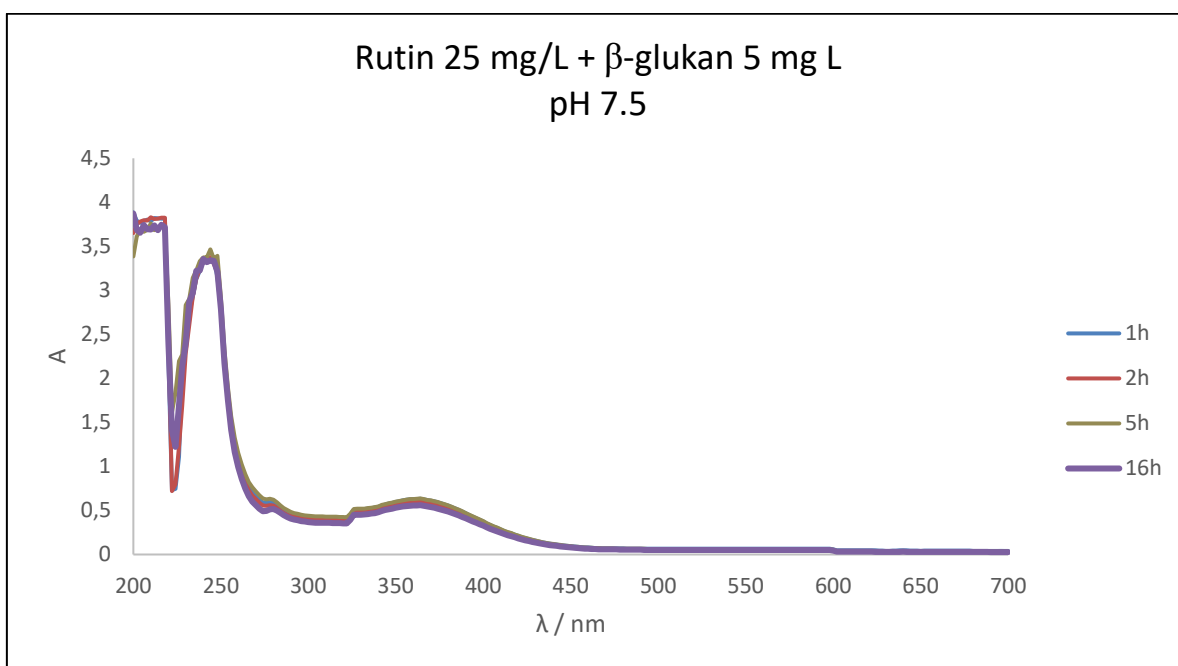
#### 4.1. APSORPCIJSKI SPEKTRI MODELA RUTINA I $\beta$ -GLUKANA



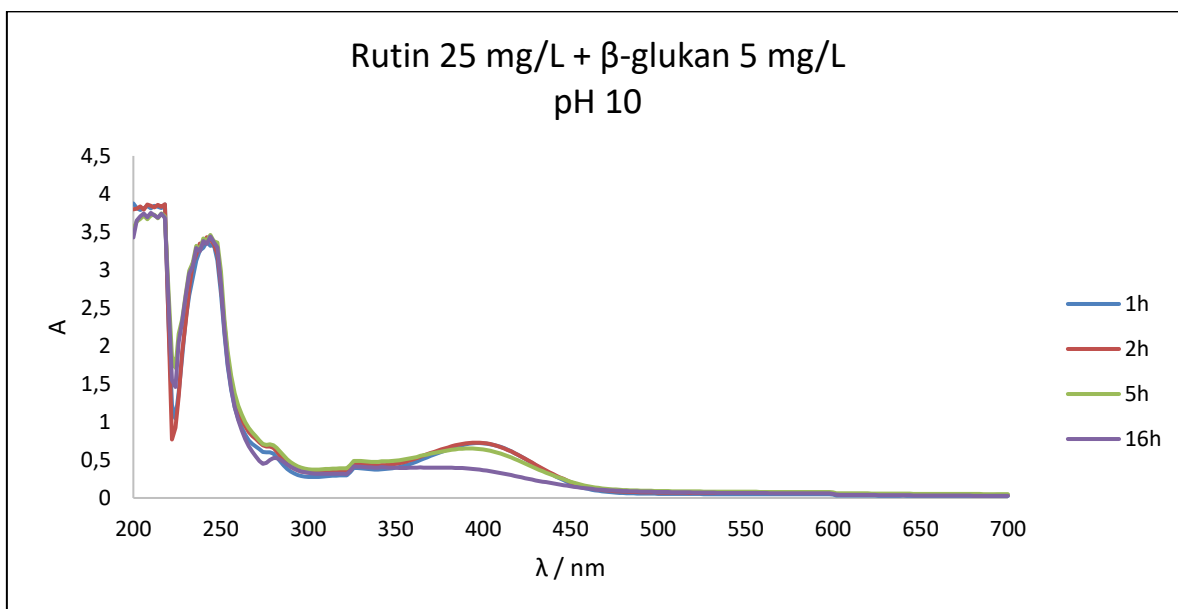
**Slika 6** Apsorpcijski spektri rutina ( $\gamma = 25 \text{ mg L}^{-1}$ ) i  $\beta$ -glukana ( $\gamma = 5 \text{ mg L}^{-1}$ ) kroz 1, 2, 5, i 16 h u pH 1,5



**Slika 7** Apsorpcijski spektri rutina ( $\gamma = 25 \text{ mg L}^{-1}$ ) i  $\beta$ -glukana ( $\gamma = 5 \text{ mg L}^{-1}$ ) kroz 1, 2, 5, i 16 h u pH 5,5

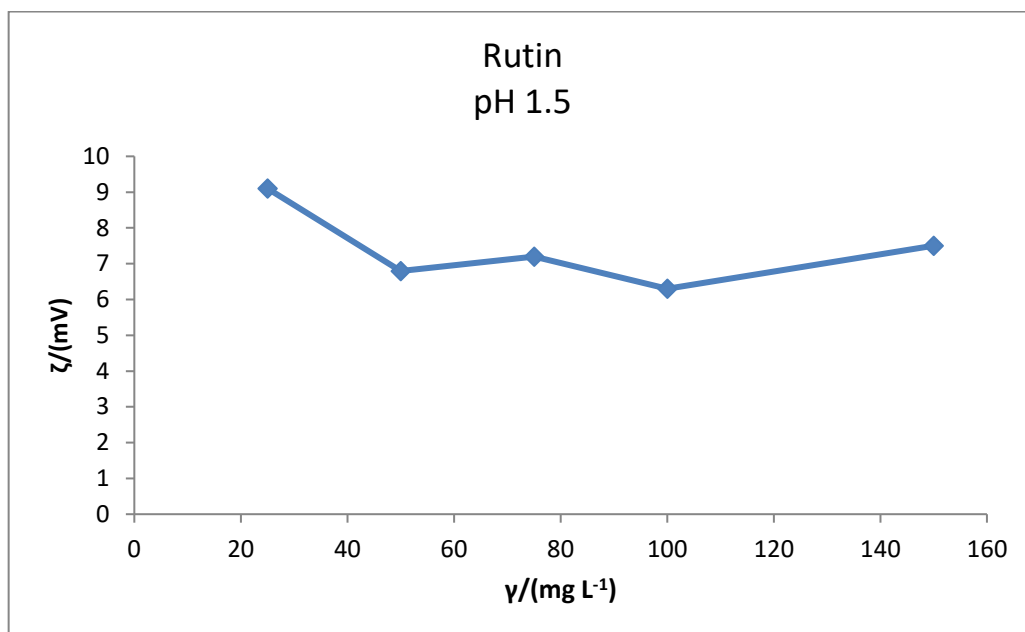


**Slika 8** Apsorpcijski spektri rutina ( $\gamma = 25 \text{ mg L}^{-1}$ ) i  $\beta$ -glukana ( $\gamma = 5 \text{ mg L}^{-1}$ ) kroz 1, 2, 5, i 16 h u pH 7,5

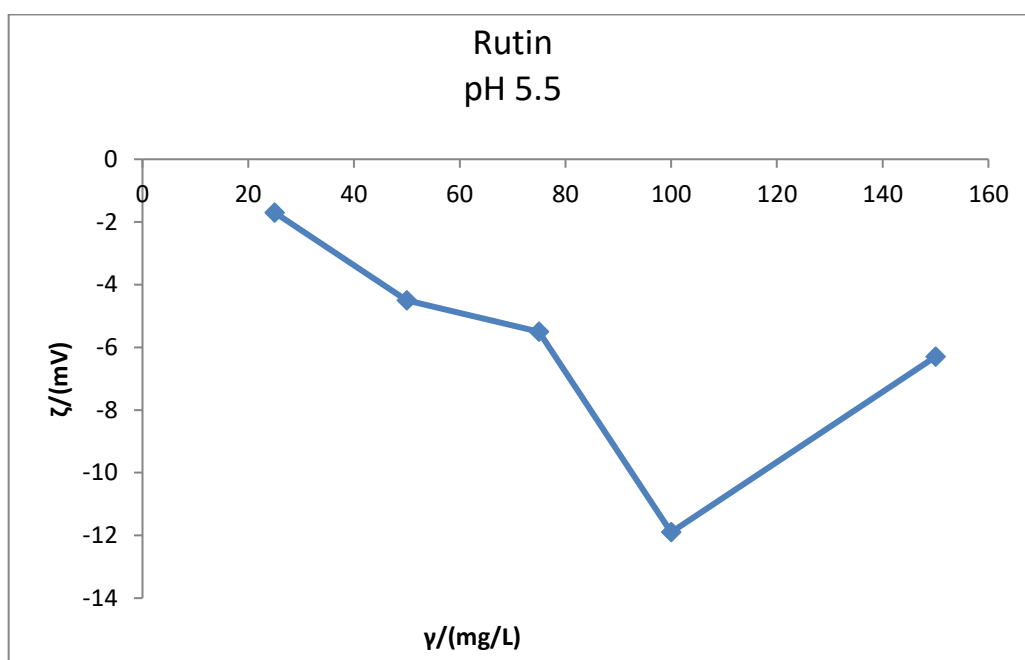


**Slika 9** Apsorpcijski spektri rutina ( $\gamma = 25 \text{ mg L}^{-1}$ ) i  $\beta$ -glukana ( $\gamma = 5 \text{ mg L}^{-1}$ ) kroz 1, 2, 5, i 16 h u pH 10

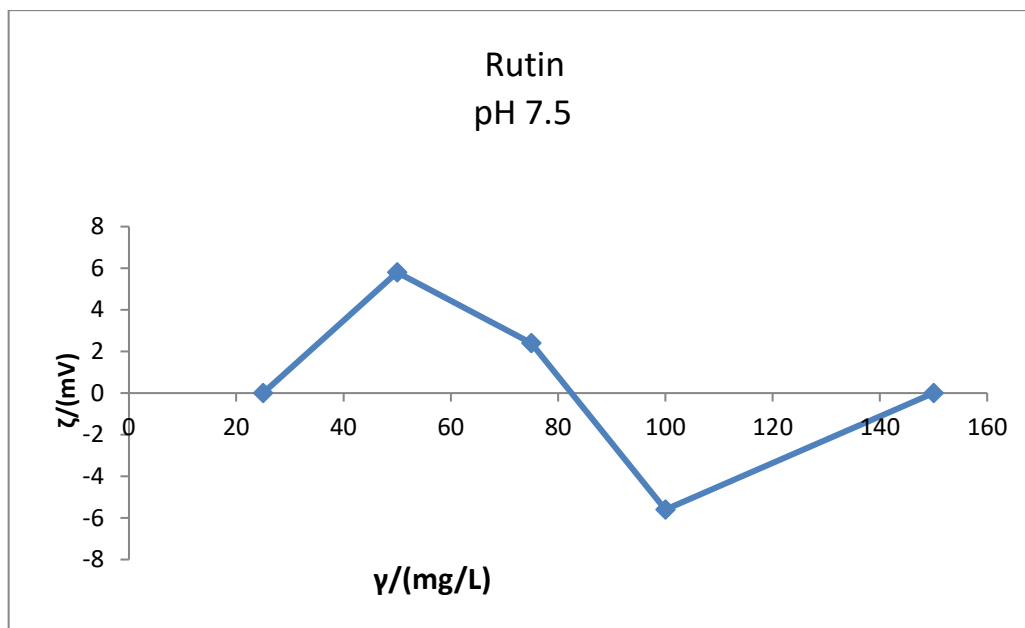
## 4.2. ZETA POTENCIJAL OTOPINE RUTINA



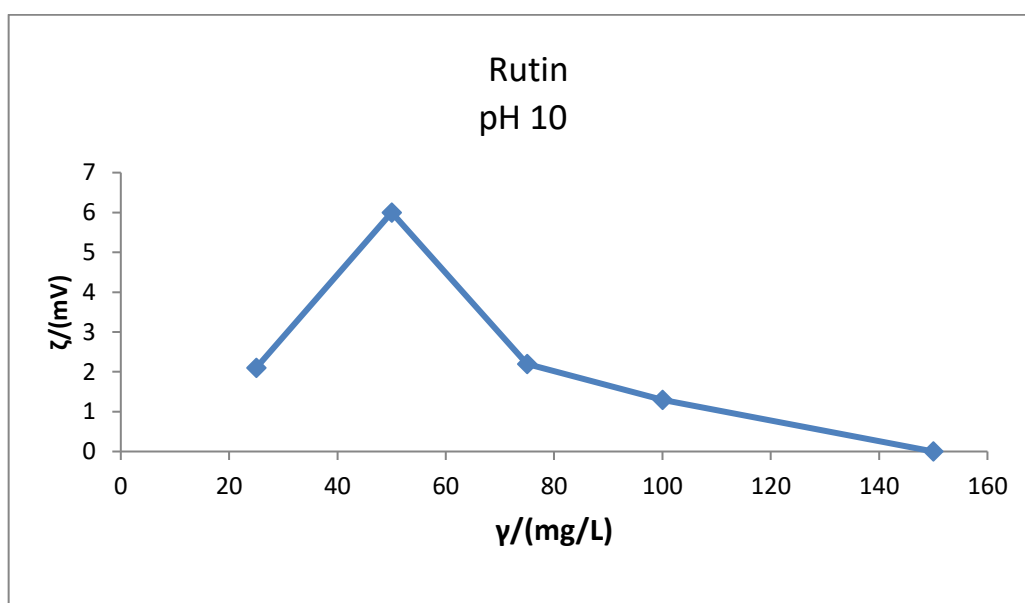
**Slika 10** Zeta potencijal otopine rutina u ovisnosti o masenoj koncentraciji u pH 1,5



**Slika 11** Zeta potencijal otopine rutina u ovisnosti o masenoj koncentraciji u pH 5,5

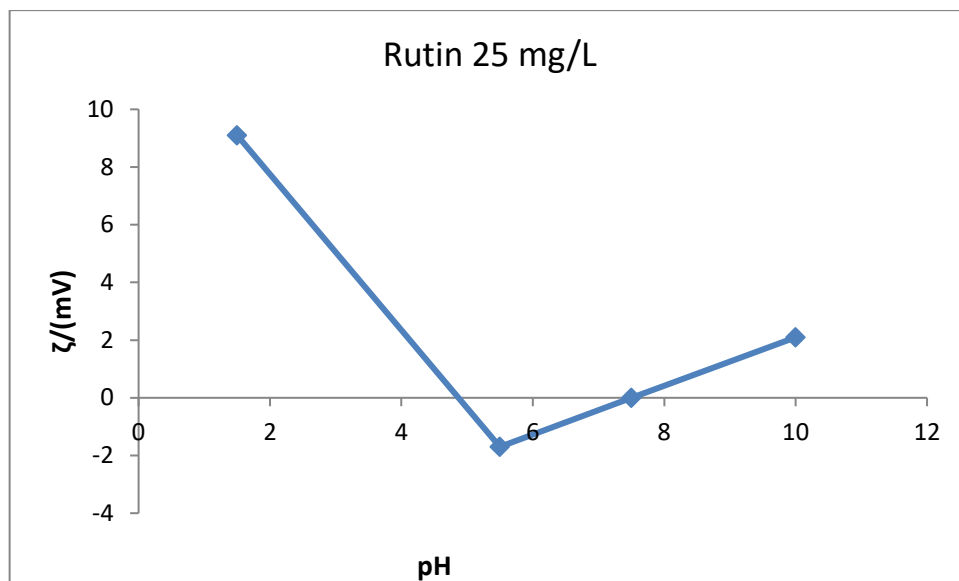


**Slika 12** Zeta potencijal otopiner utina u ovisnosti o masenoj koncentraciji u pH 7,5

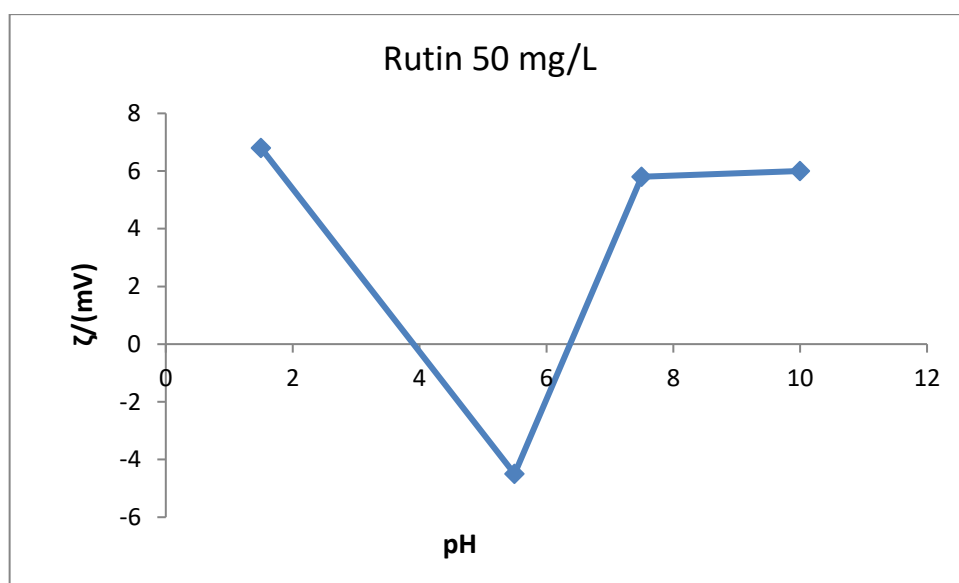


**Slika 13** Zeta potencijal otopine rutina u ovisnosti o masenoj koncentraciji u pH 10

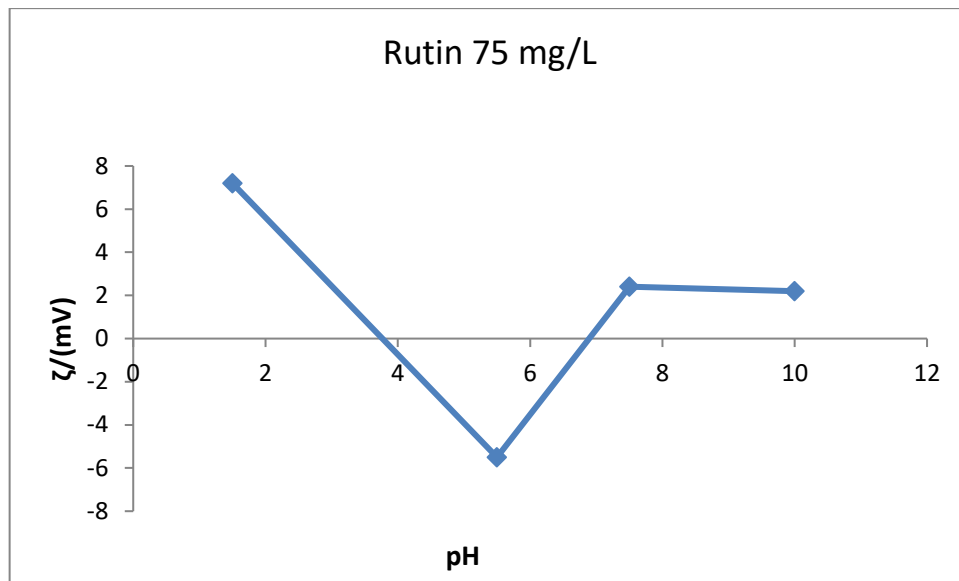




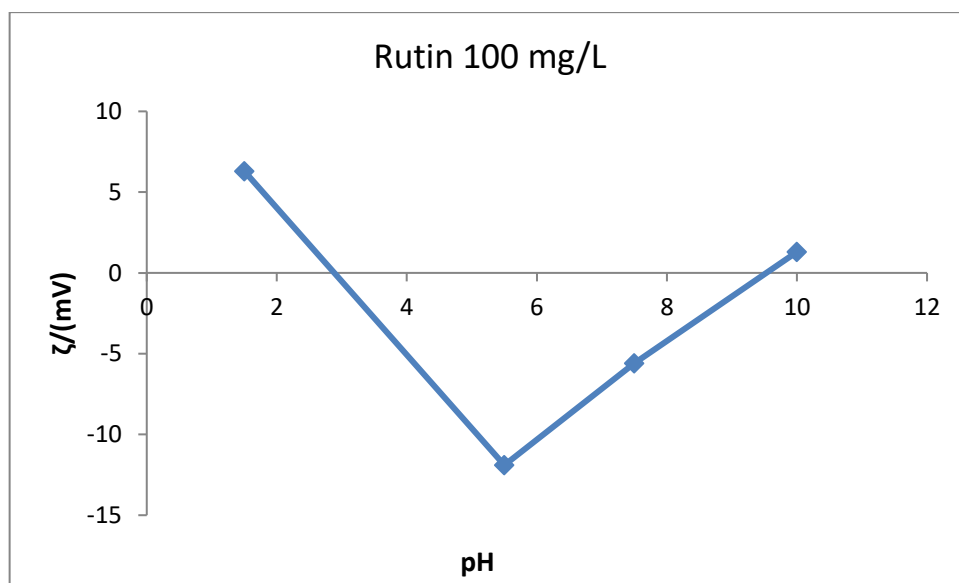
**Slika 14** Zeta potencijal otopine rutina u ovisnosti o pH pri koncentraciji 25 mg L<sup>-1</sup>



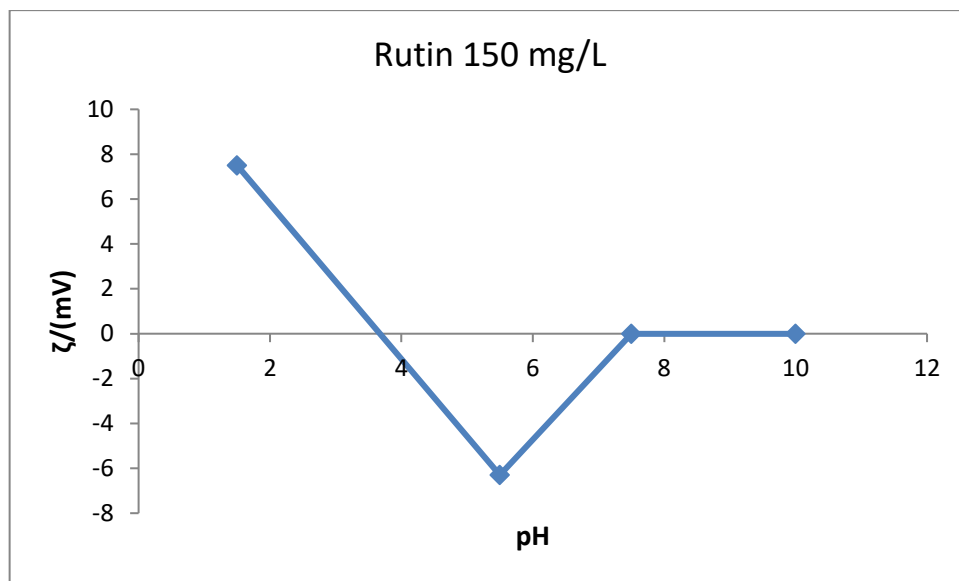
**Slika 15** Zeta potencijal otopine rutina u ovisnosti o pH pri koncentraciji 50 mg L<sup>-1</sup>



**Slika 16** Zeta potencijal otopine rutina u ovisnosti o pH pri koncentraciji 75 mg L<sup>-1</sup>

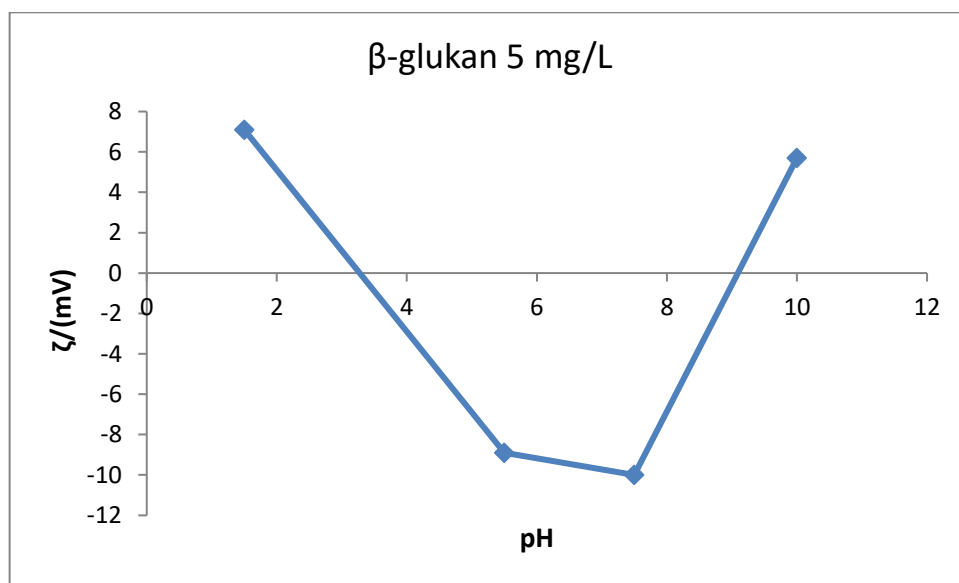


**Slika 17** Zeta potencijal otopine rutina u ovisnosti o pH pri koncentraciji 100 mg L<sup>-1</sup>



**Slika 18** Zeta potencijal otopine rutina u ovisnosti o pH pri koncentraciji 150 mg L<sup>-1</sup>

#### 4.3. ZETA POTENCIJAL OTOPINE $\beta$ -GLUKANA



**Slika 19** Zeta potencijal otopine  $\beta$ -glukana u ovisnosti o pH pri koncentraciji 5 mg L<sup>-1</sup>

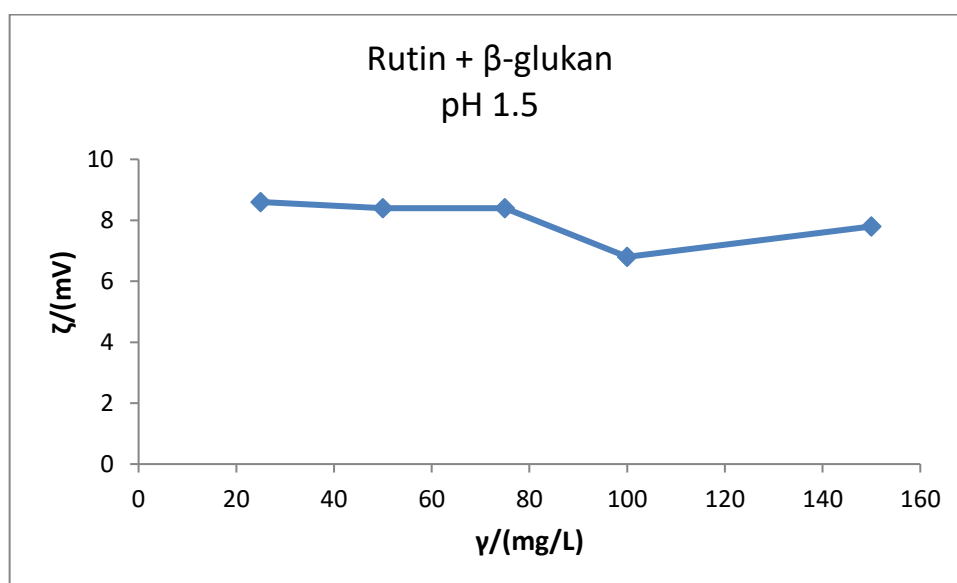
#### 4.4. ZETA POTENCIJAL MODELA RUTINA I $\beta$ -GLUKANA

**Tablica 1** Ovisnost zeta potencijala modela rutina ( $25 \text{ mg L}^{-1}$ ) i  $\beta$ -glukana ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) kroz vrijeme u ovisnosti o pH vrijednosti

t/h	pH	$\zeta/\text{mV}$
1	1,5	6,6
	5,5	-16,2
	7,5	-5,6
	10	-26,7
2	1,5	5
	5,5	-8,5
	7,5	-5,7
	10	-26,6
5	1,5	5
	5,5	-9,6
	7,5	-6,5
	10	-14,6
16	1,5	4,4
	5,5	-1,4
	7,5	-4,4
	10	-20,1

**Tablica 2** Ovisnost zeta potencijala modela rutina i  $\beta$ -glukana ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) po koncentraciji u početnom vremenu pri pH 1,5

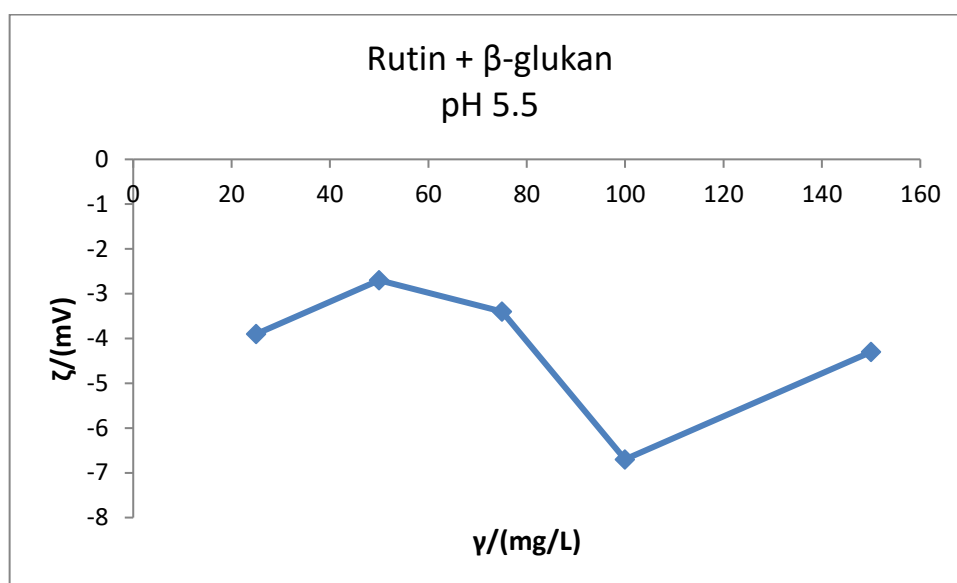
$\gamma / \text{mg L}^{-1}$	$\zeta/\text{mV}$	$\sigma$
25	8,6	$8,6 \pm 1,39$
50	8,4	$8,4 \pm 1,49$
75	8,4	$8,4 \pm 1,49$
100	6,8	$6,8 \pm 1,46$
150	7,8	$7,8 \pm 1,47$



**Slika 20** Zeta potencijal modela rutina ( $25 \text{ mg L}^{-1}$ ) i  $\beta$ -glukana ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) u ovisnosti o masenoj koncentraciji u pH 1,5

**Tablica 3** Ovisnost zeta potencijala modela rutina i  $\beta$ -glukana ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) po koncentraciji u početnom vremenu pri pH 5.5

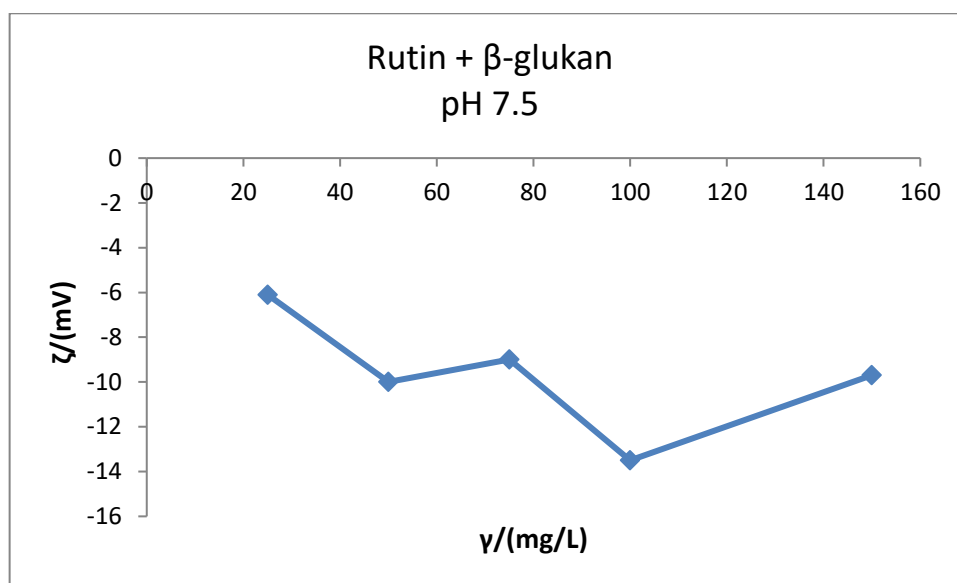
$\gamma / \text{mg L}^{-1}$	$\zeta/\text{mV}$	$\sigma$
25	-3,9	$3,9 \pm 1,99$
50	-2,7	$-2,7 \pm 2,05$
75	-3,4	$-3,4 \pm 2,01$
100	-6,7	$-6,7 \pm 2,02$
150	-4,3	$-4,3 \pm 1,98$



**Slika 21** Zeta potencijal modela rutina i  $\beta$ -glukana ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) u ovisnosti o masenoj koncentraciji u pH 5,5

**Tablica 4** Ovisnost zeta potencijala modela rutina i  $\beta$ -glukana ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) po koncentraciji u početnom vremenu pri pH 7,5

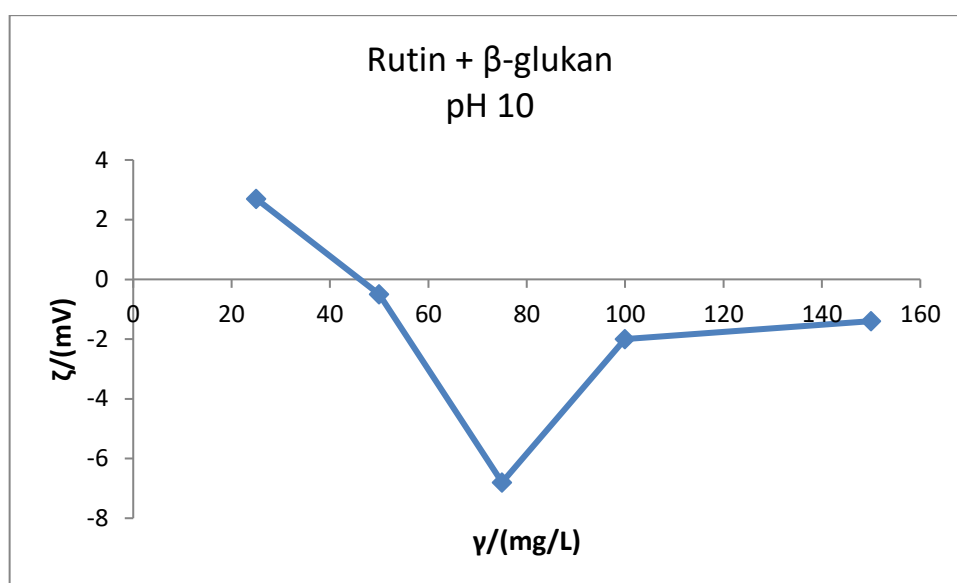
$\gamma / \text{mg L}^{-1}$	$\zeta/\text{mV}$	$\sigma$
25	-6,1	$-6,1 \pm 3,00$
50	-10	$-10 \pm 3,00$
75	-9	$-9 \pm 2,97$
100	-13,5	$-13,5 \pm 3,25$
150	-9,7	$-9,7 \pm 2,99$



**Slika 22** Zeta potencijal modela rutina i  $\beta$ -glukana ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) u ovisnosti o masenoj koncentraciji u pH 7,5

**Tablica 5** Ovisnost zeta potencijala modela rutina i  $\beta$ -glukana ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) po koncentraciji u početnom vremenu pri pH 10

$\gamma / \text{mg L}^{-1}$	$\zeta/\text{mV}$	$\sigma$
25	2,7	$2,7 \pm 3,00$
50	-0,5	$-0,5 \pm 2,84$
75	-6,8	$-6,8 \pm 3,16$
100	-2	$-2 \pm 2,85$
150	-1,4	$-1,4 \pm 2,84$



**Slika 23** Zeta potencijal modela rutina i  $\beta$ -glukana ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) u ovisnosti o masenoj koncentraciji u pH 10



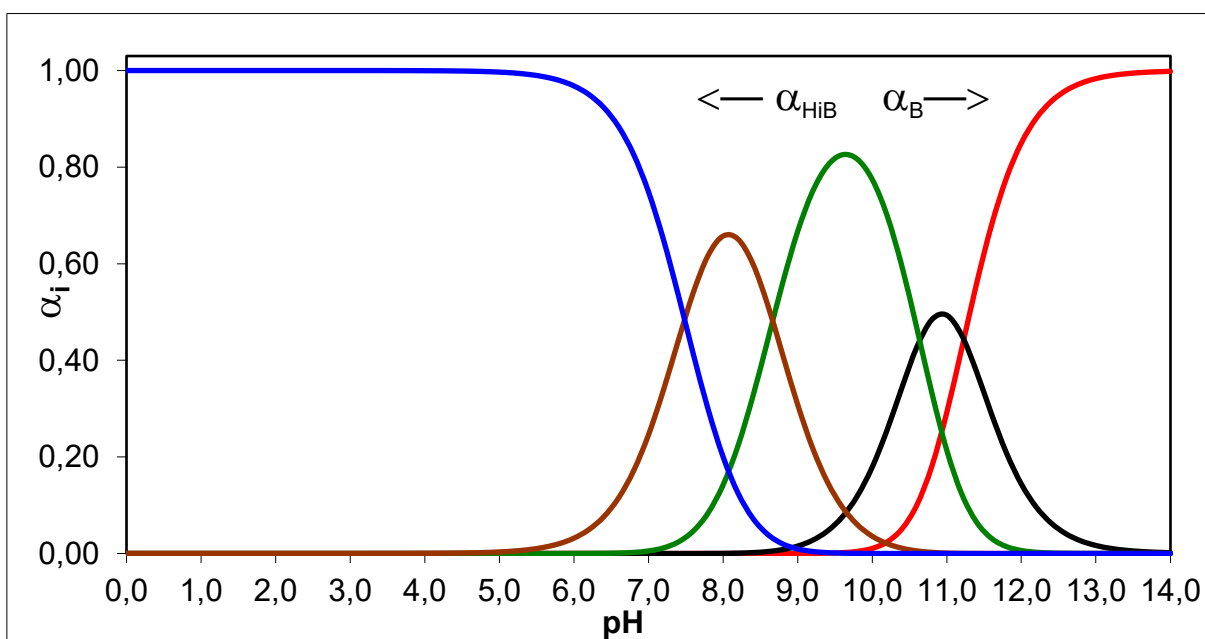
## **5. RASPRAVA**

U ovom radu istraženi su apsorpcijski spektri rutina,  $\beta$ -glukana i modela rutina i  $\beta$ -glukana u području valnih duljina od 270 do 800 nm primjenom UV-Vis spektrofotometrije. Apсорpcijski spektar predstavlja grafički prikaz neke funkcije slabljenja osnovnog snopa zračenja u ovisnosti o promjeni valne duljine, frekvencije ili valnog broja. Apсорpcijski spektri dobiveni u ovom istraživanju prikazani su na **Slikama od 6 do 9**. Na **Slikama 6-9** prikazani su apсорpcijski spektri modela rutina ( $25 \text{ mg L}^{-1}$ ) i  $\beta$ -glukana ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) pri pH vrijednostima 1,5; 5,5; 7,5 i 10 snimljeni tijekom 1, 2, 5 i 16 sata. Iz grafičkih prikaza uočavaju se maksimumi apsorpcije pri valnoj duljini od 200 do 245 nm i pri rasponu valnih duljina 350-400 nm prisutnim tijekom cijelog snimanog vremenskog perioda. Slične apсорpcijske spektre rutina dobili su Friedman i Jürgens (2000) koji su ispitivali apсорpcijske spektre u neutralnoj i lužnatoj sredini, ali ne tijekom vremenskog perioda. Snimljeni apсорpcijski spektri prikazuju ovisnost o različitim pH vrijednostima i kemijskoj strukturi rutina i  $\beta$ -glukana te se uočava stabilnost apсорpcijskih spektara tijekom ispitanog vremenskog perioda. Međutim, pri pH vrijednostima 5,5 i 10 uočava se opadanje apsorpcije pri valnoj duljini od oko 350 nm u 16 satu ispitivanja. Dobiveni apсорpcijski spektri u skladu su s literaturnim navodima autora Friedman i Jürgens (2000) odnosno prisustvo dva maksimuma pri nižim valnim duljinama (200-380 nm) odgovara polifenolnim spojevima odnosno B-prstenu, dok na višim valnim duljinama C-prstenu molekule. Što znači da priroda otapala, zatim elektron donorske i elektron akceptorske grupe iz molekule utječu na izgled apсорpcijskog spektra, odnosno apсорpcijski spektar pokazuje broj apсорpcijskih vrpca odgovornih za strukturne skupine u molekuli (Vermerris i Nicholson, 2006.; Skoog i sur., 2016).

Zatim je ispitan utjecaj pH vrijednosti, vremena i koncentracije rutina na zeta potencijal. Zeta potencijal se mijenja kako se javljaju promjene u ispitivanoj otopini, što znači da je mjerenje zeta potencijala moguće za praćenje promjena koje se odvijaju u otopinama te je poznavanje zeta potencijala važno za kontrolu pojedinih procesa (Salopek i sur., 1992). Primijećen je utjecaj pH vrijednosti, zatim interakcija između iona vode i hidrofobne površine na iznos zeta potencijala.

Na **Slikama 10-13** prikazana je grafička ovisnost zeta potencijala rutina koncentracije 25, 50, 75, 100 i  $150 \text{ mg L}^{-1}$  u pH vrijednostima 1,5; 5,5; 7,5 i 10. Iz grafičkih prikaza uočava se da pri pH 1,5 vrijednosti zeta potencijala za sve ispitane koncentracije su pozitivne i iznosa od 6,3 do

9,2 mV odnosno povećanjem koncentracije otopine rutina u pufer otopini pH 1,5 iznos zeta potencijala je stabilan. Zatim u pufer otopini vrijednosti 5,5 uočava se negativan iznos zeta potencijala promjenom koncentracije, najnegativniju vrijednost zeta potencijala u iznosu od -11,9 mV pokazuje koncentracija od 100 mg L<sup>-1</sup> (**Slika 11**). U neutralnom području pH vrijednosti pufera 7,5 koncentracije rutina (25, oko 80 i 150 mg L<sup>-1</sup>) postižu izoelektričnu točku, dok u puferu pH vrijednosti 10 samo pri koncentraciji od 150 mg L<sup>-1</sup>. Prema grafičkim prikazima može se zaključiti da promjena koncentracije otopine rutina i pH vrijednosti pufera utječe na promjenu iznosa zeta potencijala odnosno utječe na stabilnost otopine te je povezano s kemijskom strukturom rutina. Promjena stabilnosti otopine vjerojatno je povezana sa strukturalnim transformacijama molekule rutina koja je do pH vrijednosti 6 neutralna molekula, a povećanjem pH vrijednosti molekula rutina prelazi iz neutralnog oblika u anionski što je vidljivo i iz distribucijskog dijagrama prikazanog **Slikom 24** (Mielczarek, 2005).



**Slika 24** Distribucijski dijagram rutina

Pri svim ispitanim koncentracijama rutina od 25 do 150 mg L<sup>-1</sup> uočava se najveći pad iznosa zeta potencijala pri pH vrijednosti oko 5,5 te taj iznos zeta potencijala opada porastom koncentracije kako slijedi oko -2, oko -4, oko -6 i oko -10 mV (**Slike 14-18**). Ova pojava također se može opisati disocijacijom molekule rutina pri različitim pH vrijednostima što pokazuje ovisnost promjene pH vrijednosti i koncentracije rutina o kemijskoj strukturi molekule (Mielczarek, 2005).

Nadalje, ispitan je utjecaj molekule  $\beta$ -glukana na različite pufer otopine pH vrijednosti 1,5; 5,5; 7,5 i 10 (**Slika 19**). Iz grafičkog prikaza na **Slici 19** uočava se pozitivna vrijednost zeta potencijala (5-6 mV) molekule  $\beta$ -glukana pri pH 1,5 i 10, dok negativna vrijednost (-9 do -10 mV) pri pH 5,5 i 7,5. Izoelektrična točka molekule  $\beta$ -glukana postigla se u pH vrijednosti 3,2.

Jedan od ciljeva ovog diplomskog rada bio je pronaći najstabilniji model rutina i molekule  $\beta$ -glukana. Ispitan je utjecaj pH vrijednosti na model rutina koncentracije 25, 50, 75, 100 i 150 mg L<sup>-1</sup> i molekule  $\beta$ -glukana (5 mg L<sup>-1</sup>), a prikazano je na grafičkom prikazu **Slika 20-23**. Iz grafičkih prikaza (**Slika 20-23**) i iz **Tablica 2-5** uočava se da je zeta potencijal pozitivne vrijednosti u kiselom mediju dok oko neutralnog medija i u neutralnom mediju je negativne vrijednosti, a u izrazito lužnatom mediju je i pozitivne i negativne vrijednosti. Za ispitivanje stabilnosti modela rutina i molekule  $\beta$ -glukana (5 mg L<sup>-1</sup>) izabrana je koncentracija rutina od 25 mg L<sup>-1</sup> jer je prema literaturi praćenje zeta potencijala izraženije u otopinama niske koncentracije (web 2). U **Tablici 1** prikazano je praćenje stabilnosti modela rutina (25 mg L<sup>-1</sup>) i molekule  $\beta$ -glukana (5 mg L<sup>-1</sup>) u ovisnosti o pH vrijednosti kroz vremenski period od 1, 2, 5 i 16h. Što je niža pH vrijednost, zeta potencijal je pozitivniji te je ovo ponašanje u skladu s teorijskim osnovama o zeta potencijalu (Metikoš-Huković i Martinez, 2004). Najstabilniji model modela rutina (25mg L<sup>-1</sup>) i molekule  $\beta$ -glukana (5 mg L<sup>-1</sup>) pokazao se u pufer otopini pH 10 kada su vrijednosti zeta potencijala do -30 mV što prema kriterijima stabilnosti govori o dobroj električnoj stabilnosti modela. Također, negativna vrijednost zeta potencijala pri pH 10 kroz ispitani vremenski period govori da je najstabilniji model rutina (25mg L<sup>-1</sup>) i molekule  $\beta$ -glukana (5 mg L<sup>-1</sup>) u obliku aniona. Izoelektrična točka odnosno neutralna molekula modela rutina (25mg L<sup>-1</sup>) i molekule  $\beta$ -glukana (5 mg L<sup>-1</sup>) je u prvom satu istraživanja iznosila pH 2,5, u drugom i petom satu pH 2,8 i u šesnaestom satu ispitivanja pH 4,5.

Zeta potencijal je važan parametar pri karakterizaciji površine makromolekule kao što je ispitani model rutina i  $\beta$ -glukana. Dobivene relativno niske vrijednosti zeta potencijala u ovom istraživanju mogu se povezati s adsorpcijom vode ili aniona na površinu makromolekule odnosno disocijacijom adsorbirane vode ili disocijacije određenih molekulskih skupina. Do danas, u literaturnim podacima prisutni su kontradiktorni rezultati vezani za istraživanje zeta potencijala na vlaknima u vodenom mediju, međutim sva istraživanja su potvrdila da je prisutna ionsko-molekulska interakcija (Jacobasch i sur., 1985).

## 6. ZAKLJUČAK

Na osnovi provedenih istraživanja mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- $\beta$ -glukan je prehrambeno vlakno, dugolančani polisaharid u kojem su jedinice glukoze povezane  $\beta$ -1,3 ili  $\beta$ -1,4-glikozidnom vezom
- rutin je flavonoid koji posjeduje značajan pozitivan biološki učinak na ljudski organizam
- Ispitani apsorpcijski spektri modela rutina ( $25 \text{ mg L}^{-1}$ ) i  $\beta$ -glukana ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) pri pH vrijednostima 1,5; 5,5; 7,5 i 10 snimljeni tijekom 1, 2, 5 i 16 sata pokazuju maksimume apsorpcije pri valnim duljinama od 200 do 245 nm i pri rasponu valnih duljina 350-400 nm.
- Apsorpcijski spektri modela rutina ( $25 \text{ mg L}^{-1}$ ) i  $\beta$ -glukana ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) pokazuju ovisnost o različitim pH vrijednostima i kemijskoj strukturi ispitanog modela.
- Pri svim ispitanim koncentracijama rutina ( $25 - 150 \text{ mg L}^{-1}$ ) uočava se najveći pad iznosa zeta potencijala pri pH vrijednosti oko 5,5 te se ta pojava također može opisati disocijacijom molekule rutina pri različitim pH vrijednostima. Pozitivna vrijednost zeta potencijala kod molekule  $\beta$ -glukana izmjerena je pri pH 1,5 i 10, dok je negativna vrijednost izmjerena kod pH 5,5 i 7,5. Ova promjena stabilnosti otopine vjerojatno je povezana sa strukturalnom transformacijom molekule rutina koja je do pH vrijednosti 6 neutralna molekula, a povećanjem pH vrijednosti prelazi iz neutralnog u anionski oblik.
- Najstabilniji model rutina i molekule  $\beta$ -glukana pokazao se u pufer otopini pH 10 gdje su vrijednosti zeta potencijala bile do - 30 mV.

## **7. LITERATURA**

- Akileshwari C, Muthenna P, Nastasijević B, Joksić G, Petrash JM, Reddy GB: Inhibition of Aldose Reductase by *Gentiana lutea* Extracts. *Experimental Diabetes Research*, 147965, 8, 2012.
- Bai J, Ren Y, Li Y, Fan M, Qian H, Wang Li, Wu G, Zhang H, Qi X, Xu M, Rao Z: Physiological functionalities and mechanisms of  $\beta$ -glucans. *Trends in Food Science & Technology* 88: 57-66, 2019.
- Cano-Sarmiento C, Téllez-Medina I, Viveros-Contreras R, Cornejo-Mazón M, Figueroa-Hernández CY, García-Armenta E, Alamilla-Beltrán L, García HS, Gutiérrez-López GF: Zeta Potential of Food Matrices. *Food Engineering Reviews* 10:113–138, 2018.
- Friedman M, Jürgens HS: Effect of pH on the Stability of Plant Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 2101-2110, 2000.
- Frutos MJ, Rincón-Frutos , Valero-Cases E: Rutin. U *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements*, 111-117. Academic Press, Alicante, 2019.
- Ganeshpurkar A, Saluja A: The Pharmacological Potential of Rutin. *Saudi Pharmaceutical Journal* 25: 149-164, 2017.
- Ghica ME, Brett AO: *Electrochemical Oxidation of Rutin*. Departamento de Química, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra, Portugal, 2004.
- Havrlentoná M, Petrušáková Z, Burgárová A, Gago F, Hlinková A, Šturdík E: Cereal  $\beta$ -glucans and their Significance for the Preparation of Functional Foods- A Review. *Czech journal of food sciences* 29: 1-14, 2011.
- Jacobasch HJ, Bauböck G, Schurz J: Problems and results of zeta-potential measurements on fibers. *Colloid & Polymer Science* 263: 3-24, 1985.
- Jakobek Barron L: Nastavni materijal iz kolegija Fizikalna kemija. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2018.
- Jakobek Barron L: Nastavni materijal iz kolegija Instrumentalne metode II. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2017.
- Jakobek L, Matić P: Non-covalent dietary fiber-polyphenol interactions and their influence on polyphenol bioaccessibility. *Trends in Food Science & Technology* 83: 235-247, 2019.



- Jakopović Ž, Čanak I, Frece J, Bošnjir J, Ivešić M, Kuharić Ž, Pavlek Ž, Markov K: Uklanjanje kompleksa  $\beta$ -glukan-AFM1 iz mlijeka. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition* 13,136-139, 2018.
- Krpan V, Petravić-Tominac V, Gospodarić I, Sajli L, Đaković S, Filipović-Grčić J: Characterization of  $\beta$ -Glucans Isolated from Brewer's Yeast and Dried by Different Methods. *Prehrambena tehnologija i biotehnologija* 48: 189-197, 2010.
- Lazaridou A, Biliaderis CG: Molecular aspects of cereal  $\beta$ -glucan functionality: Physical properties, technological applications and physiological effects. *Journal of Cereal Science* 46: 101-118, 2007.
- Luxbacher T, Pušić T, Bukšek H, Petrinić I: U *8th International textile, clothing & design conference*, str. (340-345), Magic World of Textiles, Dubrovnik, 2016.
- Mansoorian B, Garcia A, Combet E, Edwards C: Dietary fibre reduced phenolic acid production from rutin in an ex vivo fermentation model. *Proceedings of the Nutrition Society* 74:1, 2014.
- Mason R: *What is Beta Glucan?*. Safe Goods, Sheffield, 2001.
- Matić P, Ukić Š, Jakobek L: An equilibrium and kinetic study of phenolic acids adsorption onto  $\beta$ -glucan. *Croatian Journal of Food Science and Technology* 10: 73-80, 2018.
- Metikoš Huković M, Martinez S: *Praktikum iz elektrokemije*. Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2004.
- Mielczarek C: Acid- base properties of selected flavonoid glycosides. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 25: 273-279, 2005.
- Patel K, Patel DK: The Beneficial Role of Rutin, A Naturally Occurring Flavonoid in Health Promotion and Disease Prevention: A Systematic Review and Update. U *Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases*, 457-479, Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Health Science, Shalom Institute of Health and Allied Sciences, Sam Higginbottom University of Agriculture, Technology and Sciences, Allahabad, 2019.

Petravić-Tominac V, Zechner-Krpan V, Grba S, Srećec S, Panjkota-Krbavčić I, Vidović L: Biological Effects of Yeast  $\beta$ -Glucans. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 75: 149-158, 2010.

Piljac I: *Elektroforeza*. Media Print, Zagreb, 2006.

Salopek B, Krasić D, Filipović S: Measurement and application of zeta-potential. *U Rudarsko-geološko-naftni zbornik*, str. 147-151. University of Zagreb, 1992.

Skoog DA, West DM, Holler FJ: *Osnove analitičke kemije*. Školska knjiga, Zagreb, 1999.

Susanto H, Feng Y, Ulbricht M: Fouling behavior of aqueous solutions of polyphenolic compounds during ultrafiltration. *Journal of Food Engineering*. *Journal of Food Engineering* 91: 333-340, 2009.

Vermerris W, Nicholson R: *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer Science, West Lafayette, 2006.

Wang Y, Liu J, Chen F, Zhao G: Effects of Molecular Structure of Polyphenols on Their Noncovalent Interactions with Oat  $\beta$ -glucan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61: 4533-4538, 2013.

Web 1: <https://ev.fe.uni-lj.si/3-4-2002/puc.pdf> [19.09.2019.]

Web 2:

[https://warwick.ac.uk/fac/cross\\_fac/sciencecity/programmes/internal/themes/am2/booking/particlesize/mrk654-01\\_an\\_introduction\\_to\\_zeta\\_potential\\_v3.pdf](https://warwick.ac.uk/fac/cross_fac/sciencecity/programmes/internal/themes/am2/booking/particlesize/mrk654-01_an_introduction_to_zeta_potential_v3.pdf)  
[20.09.2019.]